Aus der II. Medizinischen Abt. des Krankenhauses München-Schwabing

Prof. O. Neubauer.

UEBER DAS AUFTRETEN VON AMINOSAEUREN IM BLUT UND IM URIN BEI INTOXIKATIONEN MIT LEBERGIFTEN.

(Tierversuche.)

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

Gesamten Medizin

Verfasst und einer

Hohen medizinischen Fakultät

der

Bayer. Ludwig - Maximilians Universität zu München

vorgelegt von

Friedrich Hofer

Ob.Arzt i.Reichsheer

aus München.

München 1929.
Vervielfältigungsbüro Stichanner.
Tal 30/I.

R. UNIV
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Es gibt nur wenige Krankheiten des Menschen, bei welchen die Leber in so starkem Masse geschädigt wird, dass der intermediäre Stoffwechsel in hohem Grade beeinflusst wird. In Betracht kommen, die Phosphorvergiftung, die etwas häufiger auftretende akute gelbe Leberatrophie, eine Reihe von Pilzvergiftungen besonders durch verschiedene Russulaarten und durch Amanita phaloides. Es ist nicht ganz klar, ob die dabei beobachteten Stoffwechselstörungen als Folge eines einfachen Ausfalles der physiologischen Leberfunktionen anzusehen sind, oder ob autolytische Vorgänge oder andere pathologische Prozesse in der Leber teilweise dafür verantwortlich gemacht werden müssen. Bei diesen Erkrankungen kommt es zu einer tatsächlichen Parenchymschädigung. Bei einer Reihe anderer Lebererkrankungen kommt es zu keiner Insuffizienz der Leber; z.B.bei Lebercirrhose, Lebercarcinom, Katarrh, Gelbsucht, bleibt das Parenchym vollständig oder teilweise erhalten und Störungen, welche durch Einengung des Pfortaderkreislaufes bedingt sind, stehen im Vordergrund.

Bei den mit Stoffwechselstörungen einhergehenden Lebererkrankungen begegnet eine eingehende Prüfung am Krankenbett oft grossen Schwierigkeiten. Die Fälle sind nicht häufig, die Krankheitsdauer meist nur kurz; der schwere Krankheitszustand der Patienten erfordert besondere Rücksichtnahme, wodurch sich eingehende wiederholte Untersuchungen von selbst verbieten. Für ein eingehendes Studium von Stoffwechselstörungen nach Leberschädigungen ist deshalb nur das Tierexperiment geeignet.

Die scharfbeobachtenden Aerzte des Altertums schöpften ihre Kenntnisse zum Teil auch aus dem Studium von Tieren, Tierleichen, und übertragen die gefundenen Resultate auf den Menschen,eine Methode, die sich heute in der Beobachtung physiologischer und pathologischer Vorgänge im lebenden Organismus durch das Tierexperiment in erweitertem Masse erhalten hat. Wenn auch die Kenntnisse über die physiologischen und pathologischen Funktionen der Leber in den letzten Jahrzehnten bedeutende Fortschritte gezeitigt haben, die Funktionsprüfung der Leber durch eine Reihe verbesserter klinischer und experimenteller Untersuchungsmethoden sehr bereichert wurde, so ist es doch nicht immer möglich, Störungen der Leber am Krankenbett gesetzmässig zu beurteilen. Wenn auch die Beobachtung im Tierexperiment meistens nur Resultate extremer Verhältnisse ergibt, so sind doch weitgehende

Schlüsse erlaubt; solche Experimente haben weiter auch den Zweck, die Leistungsmöglichkeiten eines Organes zu erforschen und der Erkenntnis seiner Reaktionsbreite näherzubringen.

Die getrennte Untersuchung von Pfortader und Lebervenenblut hat zuerst Claude Bernard durchgeführt. Durch Ligatur der Vena Cava inf.oberhalb der Einmündung der Nierenvene und oberhalb des Zwerchfells, sowie Unterbindung der Portalvene am Hilus ist es ihm zuerst gelungen, Blut vor- und nach Durchströmung der Leber am rasch getöteten Tier zu untersuchen; er hat dabei eine der wertvollsten Leberfunktionen entdeckt,die Entstehung von Glykogen aus zuckerfreiem Material und die fermentative Bildung von Traubenzucker aus dieser Speichersubstanz. (Cl.B."Neue Funkt.d.Leber als zuckerbereitendes Organ des Menschen u.d.Tiere,Würzburg 1853,deutsch von V.Schwarzenbach).

Eine gute Methode,welche eine wiederholte oder dauernde Untersuchung der Zusammensetzung des Blutes vor und nach der Strömung der Leber gestattet,ist durch London und Dombrowolskaja ermöglicht worden.(E.S.London u.Dombrowolskaja,N.A.Zur Chemie des Pfortaderblutes,eine Pfortaderfistel,Hoppe Seyl,Ztschr.f.phys.Chem. 82, 415, 1921).

Ein neuer Weg der Stoffwechseluntersuchung eröffnete sich, als von Eck im Jahre 1877 anlässlich einer Pfortaderthrombose den Gedanken zur Ausführung brachte, das Blut der Pfortader in die Vena Cava überzuleiten. Pawlow bildete diese Methode zur experimentellen Verwertung weiter aus. Fischler hat sie vereinfacht und durch die umgekehrte Eck'sche Fistel, - einer Umleitung des Blutes der Vena Cava inf.in die Pfortader, eine weitere Möglichkeit geschaffen, den Einfluss der Leber auf das intermediäre Geschehen zu erforschen. Zweifellos sind die Untersuchungsmöglichkeiten, welche durch beide Methoden geboten sind, gross. Der Urin des Eck'schen Hundes zeigt jedoch keine wesentlichen Unterschiede vom Normaltier.

Man ersieht daraus, dass die Leber wohl in der Lage ist, trotz Drosselung dem Stoffwechsel gerecht zu werden. Wesentliche neue Erkenntnisse bot das Experiment mit dem Eck'schen Hund bis jetzt nicht. Es ist möglich,kombiniert mit der Eck'schen Fistel noch weitere Schädigungen an der Leber vorzunehmen und durch Belastung mit zugeführten Substanzen den Einfluss,bezw.den Ausfall der Leberfunk-

tion zu untersuchen. Eine fast vollständige Ausschaltung der Leber hat Minkowski an der Gans ausgeführt. Die Verhältnisse liegen beim Vogel günstiger als beim Warmblüter,da hier eine fast vollständige Ausscheidung des Organs durch Unterbindung aller Gefässe und des Gallenganges gelingt. Die Tiere bleiben viele Stunden der Untersuchung zugänglich.

Eine wirklich vollständige Ausschaltung der Leber beim Säugetier ist erst Mann und Magath (Mann F. C.& Th.B.Magath: Asher Spiro in Erg.Phys.23,I.Abt.,212,1924).- Bollmann J.L.,F.C.Mann und Th.B. Magath: Amer.J.Physiol. 69, 371,/1924
78, 258,/1926.
Sie führten zuerst durch Anlegung einer umgekehrten Eck'schen Fistel (Anastomose zwischen unterer Hohlvene und Unterbindung der ersteren) einen Kollateral-Kreislauf zwischen Pfortader und oberer Hohlvene herbei; in einer zweiten Operation wurde die Pfortader unterbunden, in einer dritten die Leber mit dem anliegenden Teil der Vena Cava inf.vollständig exstirpiert. Sie konnten solche Hunde mit Traubenzuckerinjektionen bis zu 24 Stunden am Leben erhalten. Diese Methode der Leberausschaltung ist wohl nicht mehr zu übertreffen,doch begegnet ihre Ausführung großen technischen Schwierigkeiten.

Große Schwierigkeiten bereitet auch das Arbeiten am überlebenden Organ.Zweifellos hat diese Untersuchungsart aber ihre großen Vorteile,da man durch das Bekanntsein der Gewichts-und Mengenverhältnisse von Organ,-Blut-und Schicksalzsubstanzen ziemlich quantitativ arbeiten kann. Eine exakte Methode für die Durchblutung der überlebenden Leber ist von Embden und seinen Mitarbeitern vorzüglich ausgearbeitet worden.

Eine weitere Möglichkeit,die Leber experimentell zu schädigen bezw.ihre Funktion auszuschalten,ist die der Vergiftung.Ein großer Vorzug gegen andere Methoden,Leberschädigungen zu erreichen,ist die einfache Technik,sowie die Möglichkeit mit kleineren Warmblütern wie Kaninchen,Meerschweinchen und Mäusen zu experimentieren,welche operativen Eingriffe wegen der Kleinheit der Verhältnisse kaum zugänglich sind. Die Hauptschwierigkeit liegt in der richtigen Dosierung der Gifte,da die Wirkung der verschiedenen Applikationsarten eine ungleichmässige ist.Es ist nicht immer angängig,die Dosierung proportional dem Gewicht zu gestalten,da der Ernährungszustand der

Versuchstiere eine Rolle spielt und das Alter zu beachten ist. Die Nahrungsaufnahme von vergifteten Tieren ist inkonstant; Versuche im Hungerzustand sind vorzuziehen, obwohl bei längerer Durchführung der Versuche wiederum Aenderungen im Stoffwechsel geschaffen werden (Eiweissabbau). Nicht zu umgehen ist die Versorgung der Versuchstiere mit Wasser (Schlundsonde, subcutane Injektion mit Kochsalzlösung). Dieselbe ist konstant zu gestalten, da z.B. die Aminosäurenausscheidung im Urin nicht unbedeutend von ihr abhängt, und wie E.Schmitz und Paul Siwon nachgewiesen haben, bei Menschen mit der Wasserausscheidung nahezu parallel geht. (E.S. und P.S. Biochem. Ztschr. Berlin 1925).

Es besteht die Möglichkeit, dass solche Gifte, denen eine Affinität zu den Leberzellen nachgewiesen ist, oder welche mit Sicherheit fettige Degeneration in der Leber erzeugen, auch noch andere Organe zu schädigen vermögen.

Auch die Untersuchung am kranken Menschen bietet die Möglichkeit, Aenderungen im intermediären Stoffwechsel zu erkennen. Ueber das Auftreten von Aminosäuren im Blut und im Urin beim Gesunden und beim Kranken liegen eine Reihe von Beobachtungen und Tatsachen vor.

Aminosäuren im Blut und Hyperamin-acidose.

Durch A.Kossel, E.Fischer und Fr.Hofmeister ist der säureamidartige Charakter der Eiweißbausteine und der chemische Aufbau des Eiweißkörpers in seinen Grundzügen erfasst worden. Man weiß, dass man Proteine durch verschiedene Prozesse in ca. 20 Bausteine, eben Aminosäuren zerlegen kann; man weiß, dass im Darm die durch die Nahrung aufgenommenen Eiweißsubstanzen bis zu diesen Bausteinen aufgespalten werden. Die Annahme ist berechtigt, dass der Organismus in der Lage ist an diesen Bausteinen seinen arteigenen Eiweißbestand durch Synthese wieder zu ergänzen. Dass der Abbau durch hydrolytische Spaltung eintritt, welche Nebenwege eingeschlagen werden können, darauf soll hier nicht näher eingegangen werden (s. Handb. d. norm. und path. Physiol. - Intermed. Eiweißstoffwechsel von O. Neubauer). Im Mittelpunkt des Eiweißstoffwechsels stehen die Aminosäuren. Nach Folin und Berglund (J. of biol. Chem. 51, 395, 1912) sind beim Menschen die A.S.N.-Werte im Nüchternblut ziemlich konstant

5,7 - 6,4 - 7,82 mg%,wobei die Blutkörperchen einen höheren Gehalt aufzuweisen scheinen, als das Serum. Im Plasma 4,3 - 5,3 - 6,2 mg%, in den Körperchen 7,7 - 8,2 - 13,2 mg%. Bei Hunden fand man Werte von 3 - 5 mg%, bei Rind und Schaf 5 - 6 - 8 mg%. Beim Kaninchen 9,2 mg% (J.Bock,J.of biol.Chem.1916/17 28 & 29). Bedeutend höhere Werte fand man bei Tieren,welche kernhaltige Erythrocyten besitzen, besonders beim Vogel und Frosch, - 2o - 25 mg%. Die Angaben der einzelnen Autoren sind von einander etwas abweichend,was sich durch die verschiedenen Versuchsbedingungen Methodik und schliesslich auch durch Rassenunterschiede der untersuchten Tierarten erklärt.

Durch eiweißreiche Nahrung tritt vorübergehend eine geringe Erhöhung des Aminosäuren-Spiegels im Blut auf. Auch die Ausscheidung der Aminosäuren im Blut wird dadurch gesteigert (E.Schmitz & P.Siwon, Biochem.Ztschr.16o,Heft 1/3 1925 Berlin). Auch im Hungerzustand fand S.Marino erhöhte Werte beim Hund;diese Beobachtung machte ich auch gelegentlich an Kaninchen,doch belief sich die Erhöhung auf nur ca. 10% und ist nicht konstant aufgetreten. Loeper,Decourt und Lesure (C.r.soz.Biol.94,271,333,1926) fanden im Milzvenenblut höhere Werte als in der Milzarterie,sprachen der Milz also die Fähigkeit zu,Aminosäuren zu produzieren. Nach Adrenalinzusatz (Milzkontraktion) soll durch eine Erhöhung,-nach Milzentfernung eine Senkung des Amino N-Gehalts des Blutes eintreten. Ich selbst konnte einen Fall von Milzexstirpation auf Aminosäuren untersuchen. Es handelte sich um einen Hufschlag gegen die linke untere Brusthälfte bei einem Soldaten; da die klinischen Erscheinungen für eine Milzruptur sprachen, wurde operiert und die rupturierte Milz entfernt. Der Amino N-Gehalt im Gesamtblut vor der Operation: 5,7 mg%, am Tage nach der Operation: 7,5 mg%, 8 Tage nach der Operation: 7,4 mg%, 4 Wochen nach der Operation: 6,8 mg%, 8 Wochen nach der Operation:7,1 mg% im Nüchternblut. Der unmittelbare mäßige Anstieg 20 Stunden nach der Operation ist wohl auf Resorption von freiem Blut aus der Bauchhöhle zurückzuführen; Marino fand bei der Regeneration des Blutes nach Aderlässen eine Erhöhung des Amino N im Blut (S.Marino,Kongr. Zentr.Bl.inn.Med.29,446,1923; 33,227,1924).

Bei Durchsicht der einschlägigen Literatur ist es auffällig, wie weit die Befunde der einzelnen Autoren von einander abweichen. Insbesondere zeigt es sich,dass gerade die Untersuchungen mit der

heutigen Methode der Wahl(Folin)keine so annähernd hohen Werte ergeben haben,wie die früheren Untersuchungen älterer Autoren.

Bereits Frerichs stellte in seiner Klinik um 185o bei akuter Leberatrophie und Phosphorvergiftung große Mengen von Leuzin und Tyrosin im Harn fest. Er hielt das Auftreten dieser Stoffe für das Zeichen einer Leberinsuffizienz.Nicht alle der zahlreichen Nachuntersucher teilten die Ansicht dieses großen Klinikers. Neuberg & Richter, die in einem akuten Fall von Leberatrophie 2,13 g Aminosäuren aus 345 ccm Blut isolierten,-das sind 65,1 mg%,waren der Ansicht,daß diese enormen Mengen von Aminosäuren aus dem Muskeleiweiß stammten. Neuberg & Strauss ließen die Herkunft der von ihnen gefundenen Aminosäuren in Transsudat von Lebercirrhotikern (2,4%) dahingestellt (alte Methoden).

Auch Feigel und Luce (Biochem.Ztschr.79,162,1917)konnten aus dem Blut von Kranken mit akuter Leberatrophie erhebliche Mengen von Aminosäuren darstellen.Es ergab sich dabei eine Quantität von ca.lo g Aminosäuren in einem Liter Blut.Eine Reihe von Autoren, wie Rowntree,Marshall,Chesney,Umber konnten nur geringe Erhöhungen feststellen.So fand von Falkenhausen (Arch.f.exper.Path.1o3,322, 1924)Werte von 11,28 - 13,8 - 11,66 mg%.

Wolpe hat in 2 Fällen von akuter Leberatrophie(Leuzin und Tyrosin im Urin) 7,7 und 7,8 mg% festgestellt.(Phosphorvergiftung siehe unten).

Zenker fand bei 2 Fällen von akuter Leberatrophie völlig normale Rest N und Gesamt N-Werte im Blute.Diese Befunde decken sich auch mit der Erfahrung,dass auch bei genauestem Suchen bei schwersten Leberatrophien mitunter kein Leuzin oder Tyrosin gefunden wurde,

Brodin fand 1913 bei 4 Fällen von Lebercirrhose einen erhöhten Residual N.Chauffard bestimmte indirekt den Residual N und behauptete 1913 seine Vermehrung sei direkt proportinal dem Grade der Leberschädigung.Experimentell konnte die Ansicht dieser französischen Forscher nicht gestützt werden.

Bei Lebercirrhose u.einer Reihe von anderen Erkrankungen,die mit einer Schädigung d.Leber einhergingen,fand Wolpe stets normale Werte,Ich selbst untersuchte 2 Fälle v.akuter Leberatrophie u.fand dabei 5,2 u.6,5 mg%.Die Verschiedenh.dieser Befunde zeigt,daß eine

Hyperaminaci-

dose nicht unbedingt zu diesem Krankheitsbild gehört. Nach der heutigen Ansicht stammen die bei Leberatrophien ausgeschiedenen Aminosäuren aus dem autolytischen Zerfall der Leber. Durch eine so vermehrte Bildung von Aminosäuren aus dem Lebereiweiß selbst, im Zusammenhang mit einem Versagen der desamidierenden und synthetisierenden Funktion der Leber, könnten die gelegentlich gefundenen hohen Werte von Amino N im Blut und im Urin erklärt werden. Auch bei Eklampsie sind gelegentlich erhöhte Amino N Ausscheidungen im Urin gefunden worden. Ich selbst hatte Gelegenheit durch Entgegenkommen von Herrn Stabsarzt Dr.Bayer an der Döderlein'schen Klinik 3 Eklamptische auf den Aminosäuren-Gehalt im Blut zu untersuchen. Sämtliche 3 Fälle wurden durch Sectio caes.entbunden.

Name	Alter	Part.	R.R.	Oper.	Rest N. mg%	Amino N. mg%	Harns. mg%
L.M.	23	I.p.	14o	nach	19	5,4	5,4
E.M.	28	I.p.	18o	vor	21	5,5	5,22
Sch.G.	24	I.p.	145	nach	34	6,o	1o,2

Auch hier zeigten sich also normale Amino-N-Werte im Blut, bei normalem Rest N und durchwegs erhöhter Harnsäure.

Bei einem Fall von akuter Pankreasfettnekrose bot das Serum den erhöhten Wert von 11,8 mg%. Das Serum wurde aber erst 12 Stunden nach Blutentnahme untersucht, (stand auf Eis und zeigte geringe Haemolyse), weshalb diesem Wert keine entscheidende Bedeutung zugemessen werden darf.

Eine ganze Reihe von Autoren haben bei Lebererkrankungen Aminosäureanreicherungen im Harn gefunden (Masuda, Erben, Labbé). Wiederum haben Versuche von Frey gezeigt, dass Leberkranke zugeführte Aminosäuren genau so gut verwerten wie Gesunde. Doch findet Frey bei allen cirrhotischen Prozessen der Leber eine Hyperaminacidurie und betrachtet dieselbe als ein wichtiges diagnostisches Zeichen. Nach Zandrén tritt die erhöhte Ausscheidung erst im Endstadium auf
(Zandrén E., Klin.Med. 94, lol, 1922)
(Frey,W. Z. Klin.Med. 72, 383, 1911)
Im Blut selbst konnte jedoch keine Hyperaminacidaemie festgestellt

werden;doch hat Rosenbaum nach Injektion von 6o g Rectamin bei Lebercirrhotikern und Leber-Ca.einen länger als lo Minuten dauernden Anstieg des Blutaminosäurenspiegels beobachtet. Von Falkenhausen konnte im selben Versuche keine Unterschiede gegenüber dem Verhalten des Gesunden finden. (Rosenbaum S.,Z.Exper.Med.41,42o, 1924). Von Falkenhausen,Arch.f.exper.Path.,1o2,222.-)

Nach F.Fischler ist die Aminosäurenausscheidung im Urin beim Eck'schen Hund etwas erhöht,keineswegs aber regelmässig.Beim Eck'schen Hund kombiniert mit Unterbindung des Ductus Choledochus zeigte sich erst bei Phlorizingaben final eine etwas erhöhte Ausscheidung.

Die Vermutung,dass bei anderen Erkrankungen,die mit einem endogenen Eiweißabbau einhergehen,erhöhte Zahlen von Amino N im Blute auftreten,hat sich nur teilweise bestätigt. So fanden bei der Lösung der Pneumonie Erben,Labbé und Wolpe leicht erhöhte Werte. Letzterer bis 11,6 mg% im Serum. Recht erheblich höhere Werte wurden bei Leukaemien gefunden,sowohl bei der myeloischen als auch lymphatischen L. Okada und Hajashi haben im Gesamtblut bis zu 29,2 mg% Amino N gefunden (Okada und Hajashi,J.of Biol. Chem.55,121,1922). Diese beiden Autoren führen diese immerhin stark erhöhten Werte auf einen Zerfall der Zellkerne der Leukocyten zurück. E.Becker und E.Hermann kamen zu ähnlichen Resultaten (B.E.u.E.H.Münch.Med.Woch.72,2178,1925).Im Allgemeinen war der Amino N-Gehalt umso höher,je mehr Leukocyten im Blut waren. Die Aminosäuren finden sich hauptsächlich in den weissen Blutkörperchen.Bei Verminderung derselben durch Bestrahlung gehen auch die Amino N Werte stark zurück. Die Autoren verweisen auf den hohen Amino N Gehalt des normalen Vogelblutes mit seinen kernhaltigen Erythrocyten.

Bei anderen Erkrankungen, die mit einer starken Leukocytose einhergehen,konnte Wolpe nur gelegentlich nur etwas erhöhte Werte finden. Im Gegensatz dazu fand er bei einem Fall von Typhus (37oo Leukocyten)den leicht erhöhten Wert von 8,9 mg%. Vermutlich war dieser Wert durch gesteigerten endogenen Umsatz, infolge geringer Nahrungsaufnahme in Verbindung mit hohem Fieber bedingt.Derartig minimale Erhöhungen haben natürlich diagnostisch keinerlei Bedeutung.

Ueber das Auftreten von Aminosäuren bei Diabetes liegen bereits ältere Beobachtungen von Noordens vor(Handb.d.Path.d. Stoffwechsels,Bd.2,91,19o7). Galambos und Tausz haben bei einem Fall von schwerem Diabetes 4o64 mg Amino N im Harn gefunden. Diese Werte sind ungewöhnlich hoch;auch bei Untersuchungen am experimentellen Pankreas Diabetes fanden die Autoren ausserordentlich hohe Werte.Gegen diese Befunde sind schwere Bedenken zu erheben.So entsprach der Amino N bis zu 69% des Gesamt N; aus den Protokollen ist ersichtlich,dass vor der Operation bereits Werte bis zu 35% gefunden wurden.Auch von Jaksch und Erben fanden bei Diabetikern erhöhte Werte im Urin. Erhöhte Diurese des Diabetikers können diese Befunde teilweise erklären. Ueber die Erhöhung des Amino N des Diabetikerblutes gehen die Ansichten noch auseinander.Desqueyroux und Wolpe fanden im Diab.Blut erhöhte Werte.Van Slyke,Feinblatt,die Mitarbeiter der Mayoklinik,von Falkenhausen haben jedoch nur normale Werte im Blut gefunden. Vermutlich bestehen hier Zusammenhänge mit der Acidosis und der damit bedingten Mehrausscheidung von Ammoniak;bei Besserung der Gesamtlage der diabetischen Stoffwechselstörung,zusammen mit einer geringeren Ammoniakausscheidung gehen auch die erhöhten Amino Werte im Urin zurück. Nach E.Wiechmann sinkt nach Jnjektion von Insulin beim Diabetiker der Aminosäurenspiegel des Blutes und die Aminosäurenausscheidung des Harns. Nach oraler Belastung mit Glykose nimmt beim Gesunden und Leichtdiabetiker der Gehalt des Blutes an Aminosäuren ebenfalls ab,beim schweren Diabetiker bleibt er unverändert.

Ueber die Wirkung des Adrenalins auf den Aminosäurenspiegel liegen auch einzelne Beobachtungen vor;dieselben lassen jedoch keine unmittelbaren Schlüsse zu. Erhöhungen des A.S.N. wurden nach Adrenalininjektion nicht gefunden. Wahrscheinlich spielt auch im normalen Haushalt das chromaffine System eine Rolle im Zuckerstoffwechsel,indem es je nach Bedarf Kohlehydrate aus ihren Speichern mobilisiert,eine Wirkung,die der des Insulins entgegengesetzt ist.Insulin erzeugt nach Wiechmann eine Senkung des A.S.N. Bei essentieller Hypertonie wurden wiederholt erhöhte Werte im Blut gefunden.Ich selbst untersuchte einen Fall von essent.Hypert.(42 Jahre R.R.222);A.S.N.im Blut 9,1 mg%. Auch bei

einem Fall von Grawitzschem Tumor konnte Wolpe einen Wert von 1o,2 mg%(einer seiner höchsten Werte)feststellen;hier schien also eine Störung des Aminosäuren-Stoffwechsels neben einer solchen des Zuckerstoffwechsels zu bestehen.Die charakteristischen Geschwulstknoten beim Grawitz'schen Tumor mit gelben Partien und Neigung zu Blutung werden meistens von versprengten Nebennieren-Rindenzellen abgeleitet, die sich selbständig weiter entwickelt haben. Möglicherweise kann durch dieselben noch eine Beeinflussung der inneren Sekretion stattfinden. Dass das Adrenalin bei subcutaner oder intravenöser Applikation als rasch und nur kurze Zeit wirkendes Potentialgift die sehr konstante Aminosäurenregulation nur wenig oder nur ganz vorübergehend beeinflussen kann, ist erklärlich. Sicherlich harren hier noch einige Momente der Aufklärung.

Bei anderen Stoffwechselstörungen, M. Basedow, Mixödem Fettsucht, Gicht sind bis jetzt keine Abweichungen im Aminowert des Blutes gefunden worden.

Fraenkel war der erste, der bei der Phosphorvergiftung Tyrosin und Leuzin im Harn auffand. (Fraenkel A.Bln.Chem.Wochschr. 1878 Nr.19). Baumann und andere Autorenhaben den Befund bestätigt. (Baumann E., Hoppe Seylers Z. 6, 192, 1882). Wohlgemuth erbrachte den Nachweis von Arginin im Phosphorharn von Menschen und Kaninchen (Ztschr.f.physiol.Chem.44,74,19o5).

Ishihara hat bereits im Jahre 1912 an Hunden lang dauernde subchronische Phosphorvergiftungen vorgenommen. Er fütterte seine Tiere regelmässig und brach dann den Versuch ab, wenn das Tier durch Erbrechen und Nahrungsverweigerung eine schwere Schädigung erkennen liess. Man weiss heute genau, dass bei mittelschweren - sogar schweren Veränderungen der Leber der Aminosäurengehalt des Blutes keine Aenderung zu erfahren braucht. Schwerste Veränderungen stellen sich aber beim Phosphorexperiment erst in den Endzuständen ein. Ishihara brach jedoch den Versuch ab, sobald Erbrechen eintrat, hat somit vermutlich keine schwersten Schädigungen hervorgerufen. Die Annahme, dass er seine Untersuchungen noch bei einer normal funktionierenden Leber durchgeführt habe, hat er selbst ausgesprochen. Frey fand beim P vergifteten Kaninchen 43% des total N als Amino N (Frey W.,Zt.Klin.med.Woch.

72,383,1911).Signorelli beim P.vergifteten Hund 3,66% (Kontroll-wert 1,o9-1,3%) (S.,-Biochem.Z.47,482,1912).

Auch im Blut wurden erhöhte Amino N Werte gefunden.So fand Bang beim P.Kaninchen 62 mg% Residual N (Bang J.,-Biochem. Z.72,166,1916).Feigl und Luce fanden bei einem P.Hund nach Glykokollfütterung 18o mg% Amino N.

Bei Durchblutungsversuchen der Leber mit Tyrosin,Phenylalanin und Abbauprodukten von Aminosäuren wurde von O.Neubauer sowie Embden eindeutig festgestellt,dass die Leber als Hauptstätte für den Aminosäuren Stoffwechsel in Frage kommt. In der Durchströmungsflüssigkeit fanden sich dieselben Abbauprodukte der Aminosäuren,wie sie im lebenden Organismus beim Hund festgestellt worden sind,so die Produkte der oxydativen Desamidierung-die um ein C Atom ärmeren Katonsäuren.Dass sich jedoch Störungen des Aminosäuren Stoffwechsels durch starke Aminacidurie oder durch entsprechendes Ansteigen der Aminosäurenwerte im Blut geltend machen würde,konnte experimentell nicht einwandfrei bewiesen werden.

Experimentelle Intoxikationen mit Phosphor und anderen Giften sind bereits wiederholt durchgeführt worden,doch wurden Aminosäuren dabei wenig berücksichtigt oder nur mit veralterten ungenauen Methoden bestimmt.

Es folgen eigene Versuche.

Zur Verwendung kam der gelbe Phosphor, das von Ehrlich entdeckte Icterogen und das Phlorizin; schliesslich noch Carmin-Grübler, durch welches eine Vitalfärbung der Kupfer'schen Sternzellen in der Leber gelingt.

Methodik der Bestimmung v.Aminosäuren im Blut und im Urin:

Auf die zahlreichen oft sehr komplizierten Methoden zur Bestimmung von Amino N,die im Laufe der Jahre ausprobiert wurden und in Bezug auf ihre Genauigkeit stark von einander abweichen, zum Teil grosse Mängel aufweisen,soll hier nicht weiter eingegangen werden.Eine gute praktische Bestimmungsmethode auf diesem Ge-

biete muss die Möglichkeit in sich haben,mit geringen Ausgangsmaterialien eine Untersuchung einwandfrei auch unter einfachen Verhältnissen bei mässigem Zeitaufwand durchzuführen.Folin veröffentlicht im Jahre 1922 eine kolorimetrische Methode zur Bestimmung des Amino N im Blut und im Urin,welche ihre geringen Mängel,ihrer raschen Durchführbarkeit,sowie ihrer Genauigkeit wegen heute als Methode der Wahl zur Bestimmung des Aminosäuren N im Blut und im Urin zu betrachten ist.

Das Natriumsalz der Naphtachinonsulfosäure ist das wirksame Reagens der Folin'schen Methode.Diese Substanz besitzt eine eminente Reaktionsfähigkeit mit Aminosäuren;es stellt ein goldgelbes im Wasser leicht lösliches Pulver dar.Die Farbreaktion in neutralen oder schwach alkalischen Lösungen mit Aminosäure ist enorm. Die Reaktion mit Ammoniak hat im Blut keine Bedeutung,im Urin muss das NH 3 mit Permutit entfernt werden.Als vergleichende Standardlösung wird eine 1 mg%ige N Glykokollösung in n/10 H Cl unter Zusatz von 0,2% Natriumbenzoat verwendet. Das Glykokoll wurde deshalb als Standard gewählt,weil es den Farbton des Blutaminisäurengemisches bei der Reaktion trifft,während einzelne andere Aminosäuren einen etwas abweichenden Farbton ergeben.

Die Bestimmung wurde nach der Modifikation von Wolpe wie folgt ausgeführt:

Enteiweissung nach Folin-Wu beim Kaninchen 1 auf 15.

Vergleichslösung:	Blutprobe:
1 ccm einer Glykokollösung von 1o mg% N + 9 ccm H 2 O	5 ccm Blutfiltrat(enteiweißt nach Folin-Wu)-1 Teil Blut +12 Teile H 2 O+1 Teil 2/3 n H 2 S O 4 + 1 Teil 1o%iges wolframsaures Na.
2 Tropfen alkoholische o,o5%ige Phemolphtaleimlösung	1 Tropfen alkoh.Phenolpht. Lösung.
1 ccm 1%ige Sodalösung.	Sodalösung bis zur selben Rotfärbung wie die Vergleichslösung.
2 ccm Reagens(1oo mg Naphtochinon-Sulfosäure in 2o ccm Aqua dest. völlig gelöst.	1 ccm Reagens.

Beide Lösungen 12 bis 3o Stunden im Dunkeln stehen lassen.

Dann

2 ccm Essigsäure Na-Acetat-Lösung (5o%ige Essigsäure + 5%ige Na Acetat-Lösg. a.)	1 ccm Essigsäure Na Acetat-Lösung.
+ 2 ccm 4%ige Na-Thiosulfatlösung Auffüllen auf 2o ccm.	1 ccm Na-Thiosulfatlösung, Auffüllen auf 1o ccm.

Vergleich beider Flüssigkeiten im Autenrieth-Königberg'schen Kolorimeter.

Ermittlung des Aminosäurenwertes aus einer durch empirische Eichung mit Glykokollösung hergestellten Kurve unter Berücksichtigung der Verdünnung. Das Blut der zur Untersuchung verwendeten Tiere wurde in den meisten Fällen aus einer Ohrvene direkt mit der Pravaz'schen Spritze entnommen; das Ohr wurde zuerst enthaart, dann mit Seife gewaschen und mit Aether abgerieben. Kurzes Abreiben mit Xylol ruft eine rasche Hyperaemie herbei und ermöglicht eine bessere Einführung der Kanüle in die Vene. Das teilweise zur Hyperaemisierung verwendete Analgit forte hinterlässt starke Hautschäden und schliesst wegen baldiger Verödung der Venen eine öftere Verwendung aus. Mehrmalige Herzpunktionen wurden nicht immer gut vertragen; verschiedene Tiere gingen im Anschluss daran überraschend zugrunde, ohne dass eine ersichtliche Ursache sich bei den Sektionen ergeben hätte. Jedenfalls sind die Folgen einer Herzpunktion nicht berechenbar; es ist sehr unerwünscht, wenn ein lange Zeit durchgeführter Versuch auf diese Weise verloren geht. Die Ursache solcher Vorkommnisse dürfte in einer Schädigung des Reizleitungssystems zu suchen sein. Bei Kaninchen nahm ich Herzpunktionen deswegen nur dann vor, wenn die Blutentnahme aus der Ohrvene unmöglich war. Diese Notwendigkeit stellte sich bei Kaninchen nur in Endzuständen von Intoyikationen ein. Das Blut wurde sofort aus einem sterilisierten Reagensglas abpipettiert und anschliessend nach Folin-Wu enteiweisst. Der Gehalt an Aminosäuren im Meerschweinchenblut ist bei gleichmässiger Fütterung ziemlich konstant, doch scheint nach meinen Beobachtungen bei verschiedenen Rassen Abweichungen zu bestehen. Meerschweinchen, welche regelmässig mit Hafer und Kohlrübe gefüttert wurden, zeigten A.S.N. Werte von 8,7 bis 1o,8 im Durchschnitt 9,5 mg%. Beim Kaninchen fand ich

Werte von 8-12 mg%. Bei 25 Untersuchungen fand ich einen Durchschnitt von 9,8 mg%.Um das Optimum der Ablesung im Autenrieth'schen Kolorimeter zu erreichen, arbeitete ich mit einer Enteiweissung von 1 auf 15.Stellte es sich trotz dieser Massnahme heraus,dass diese Verdünnung nicht mehr in den Rahmen der Ablesung passte,so musste der Versuch mit dem auf das Doppelte verdünnten Blutfiltrat durchgeführt werden.Aus diesem Grunde wurde bei jeder Blutentnahme ein geringer Teil des enteiweissten Filtrats im Eisschrank aufbewahrt,um der Notwendigkeit einer eventuellen Nachuntersuchung gerecht zu werden. Eine nachherige Verdünnung der bereits alle Phasen der Methode durchlaufenen Probe hat sich als nicht geeignet erwiesen.

Bestimmung der Aminosäuren im Kaninchen-Urin.

Die Käfige waren innen vollständig aus Zinkblech gefertigt.Sie bestanden aus einem trichterförmig abfallenden Boden mit Ablaufvorrichtung;über dem Boden ein Zinkrost,der ein Durchfallen von Mist verhinderte. An der inneren Trichtermündung war ein Gitternetz angebracht,welches selbst fein verteilten Mist zurückhielt,und ein Extrahieren dieser Substanzen im unterstellten Uringefäss verhinderte. Futtergefässe befanden sich stets ausserhalb der Stallung. Das für den Urin untergestellte Auffanggefäss war mit einem Gazefilter versehen;um eine bakterielle Zersetzung des Urins zu verhüten,wurde das Auffanggefäss stets mit einigen Tropfen Thymol beschickt.

Um die tatsächlich sezernierte Urinmenge gewinnen zu können wurden die Kaninchen in regelmässigen Abständen katheterisiert. Zur Verwendung kamen nur männliche Kaninchen.Da bei Hungerversuchen oder Trockenfütterung die Wasserausscheidung sehr gering ist,injizierte ich täglich 5o ccm in manchen Fällen loo ccm physiologische Kochsalzlösung subcutan.Das Katheterisieren ist absolut notwendig,da das Fassungsvermögen der Kaninchenblase sehr hoch ist und bis 2oo ccm gelegentlich entleert wurden. Da bei längeren Versuchen eine Infektion der Harnwege auch unter möglichst aseptischen Kautelen eintrat,schloss ich nach jedem Katheterismus eine Blasenspülung mit ca.3o ccm 3%- iger Borsäurelösung an,wodurch Infektionen meistens vermie-

den wurden.Andererseits stellten sich aber rein entzündliche Zustände der Harnröhre ein,die im Zusammenhang mit Sphincterpasamen einen Katheterismus vereitelten. Durch solche Zwischenfälle konnte manche Untersuchung des Urins nicht zu Ende geführt werden.Die erfolgreiche Durchführung einer vollständigen Blasenentleerung erfordert eine gewisse Routine;manchmal wird die nur 1 mm grosse Katheteröffnung durch die Blasenschleimhaut verlegt;langsames stückweises Zurückziehen des Katheters mit Druck auf die Blase von aussen;Einspritzen von destilliertem Wasser oder Durchblasen von Luft hat sich meistens in solchen Fällen als erfolgreich bewährt. Ein grosses Gefäss muss stets bereitgehalten werden,um eventuell spontan abgehenden Urin aufzufangen.Die Tiere selbst,welche von einer Hilfsperson gehalten werden,verhalten sich,falls behutsam gearbeitet wird,(ca.2mm starke halbstarre Katheter nebst Olivenöl als Gleitmittel), meistens ganz ruhig.Wie schon erwähnt wurde der Urin mit Thymol beschickt und 24 oder 48 stündig nach anschliessendem Katheterismus untersucht. Der während dieser Zeit selbständig gelassende Urin wurde kaltgestellt.. Die 48 stündige Bestimmung und die daraus folgende Berechnung für 24 Stunden hat sich als praktisch erwiesen,da quantitative Fehler aus der Uringewinnung auf ein Minimum beschränkt werden,die getroffenen Massnahmen keine Aenderung des Aminosäurengehalts bewirken. Bei der Bestimmung der Aminosäuren im Urin ist es notwendig,dass mit dem Folin'schen Reagens ebenfalls reagierende Ammoniak zu entfernen.Dies geschieht durch Permutit.Permutite sind künstlich hergestellte Zeolithe,Gemische aus Tonerdedoppelsilicaten mit Aluminiumsilicaten. Technisch finden sie Verwendung zur Entfernung des die Härte des Wassers bedingenden Calciumhydrocarbonat und Magnesiumhydrocarbonat.(Chemikerzeitung 49,818, 1925 - 48,557,1924).Dieses gewöhnliche Material lässt sich jedoch nicht ohne weiteres zur Entfernung des Ammoniak gebrauchen,sondern muss noch einer besonderen Nachbehandlung unterworfen werden,wodurch es in ein reines feinkörniges Pulver verwandelt wird,welches an Wasser keine staubigen Bestandteile abgibt und sich rasch nach Durchschütteln mit Wasser absetzt. Die Aufnahme des Ammoniaks durch das Permutit beruht nicht auf

einer Absorption,sondern auf einem reinen Jonenaustausch:durch Einwirkung anderer Salzlösungen z.B.Natriumchloridlösung kann die aufgenommene Base wieder rückausgetauscht werden. Auf dieser Tatsache aufbauend,wurde von Folin und Bell eine Methode zur Bestimmung des Ammoniaks ausgearbeitet,bei welcher das vom Permutit aufgenommene Ammoniak mit Natriumhydroxyd wieder freigemacht und mit Nesslerlösung kolorimetrisch bestimmt wird. (J.of biol.chem.29,2).Ich verwendete das Permutit der Permutitgesellschaft in Berlin.

Zur Bestimmung der Aminosäuren im Urin hat sich ein Verdünnungsverhältnis von 1 auf lo bezw.1 auf 17 für fast alle Fälle als ausreichend erwiesen. Nach der Folin'schen Vorschrift wurde der verdünnte Urin mit Permutit behandelt.(2 mal mit je 2 g Permutit gleichmässig im Erlmeyer Kölbchen 5 Minuten lang durchgeschüttelt und filtriert. Das Filtrat muss klar sein und soll mit Nessler's Reagens nur eine minimale Reaktion geben. Einen absolut negativen Ausfall dieser Reaktion habe ich mit diesem empfindlichen Reagens nicht erlebt.Es hat sich aber immer nur um minimalste Spuren von Ammoniak gehandelt,die bei der Untersuchung als ziemlich konstanter Fehler in Kauf genommen werden mussten.In zahlreichen Versuchen habe ich die Beobachtung gemacht, dass Aminosäurenlösungen nach zweimaligem Durchschütteln mit Permutit von je 5 Minuten Dauer und anschliessendem Filtrieren (Folin'sche Vorschrift)einen geringeren Gehalt an Aminosäuren aufwiesen,als Aminosäurenlösungen,die nicht mit Permutit behandelt worden sind.

Z.B.

	ohne Permutit:	mit Permutit:
lo mg N Glykokoll ergab	lo,o	8,9
lo " N Alanin "	lo,o	9,2
lo " N Glutamin S "	lo,o	8,9.

Es zeigte sich also,dass durch die Permutitbehandlung ein Fehler von ca.lo% entstanden ist.Wichtig ist,dass immer mit demselben Verdünnungsverhältnis gearbeitet wird,damit der Fehler ein konstanter bleibt,und die Ergebnisse als Vergleichswerte keine Einbusse erleiden.Es wurden immer Doppelbestimmungen ausgeführt mit einer Verdünnung von 1 auf lo und einer solchen von 1 auf 17

und aus beiden Bestimmungen das arithmetische Mittel verwertet.

Jch hatte zuerst die Absicht die Bestimmung der Aminosäuren im Urin sowohl nach Folin als auch nach der Methode Soerensen-Henriques durchzuführen,bezw.die bessere der beiden Methoden zu verwerten.Es zeigte sich sehr bald,dass die Folin'sche Methode,sowohl was Genauigkeit der Resultate,als auch die Einfachheit der Durchführung anbetrifft,der Methode Soerensen-Henriques weit überlegen war.

Es hat sich bei den Bestimmungen mit der Soerensen'schen Methode gezeigt,dass Reinsubstanzen-Aminosäuren und Ammoniaksulfat auf ihren N-Gehalt mit ca.95% Genauigkeit bestimmt werden können.Bei Mischungen beider Substanzen stellte sich immer ein geringerer durch Formol titrierbarer N-Wert heraus,als der Summe beider Einzelbestimmungen entsprochen hätte.Auf dieses Verhalten von Mischungen aus Ammoniumsalzen und Aminosäuren hat bereits A.de Jager hingewiesen.

Als ich jedoch den Reinsubstanzen Phosphate zusetzte und dieselben wieder zur Ausfällung brachte(Ausfällung der phosphorsauren und kohlensauren Salze im Urin mit Bariumchlorid und Barytlauge),also ähnliche Verhältnisse schuf,wie sie bei der Bestimmung der Aminosäuren im Urin nach Soerensen-Henriques vorliegen,stellte es sich immer heraus,dass die Ammoniakbestimmung einen viel geringeren Wert ergab,als die Bestimmung aus den Aminosäuren-Ammoniumsulfatgemisch ohne Zusatz von Phosphaten.

	Rechner	Kjeldahl	Formoltitr.
Eine Lösung von 5 gr Glykokoll in 3oo ccm H_2O enthielt in lo ccm:.....	31,1 mg N	31,1 mg N	27,72 mg N
Eine Lösung von 8,5 gr Ammoniumsulfat in 25o ccm H_2O enthielt in lo ccm:	72,1 mg N	71,2 mg N	69,69 mg N
lo ccm der Glykokoll-Lösung + lo ccm der Ammoniumsulfatlösung ergaben im:			
Kjeldahl die Summe der Einzelbestimmungen:.....		lo2,2 mg N	

Rechner: Kjeldahl Formoltitr.

Bei der Formoltitration Summe der Einzelbestimmungen
= (97,41 mg N)... 82,97 mg N

2oo ccm der Glykokollstammlösung
+ 5o ccm der Ammoniumsulfatstammlösung auf 3oo ccm mit aqua Dest.
aufgefüllt enthielten in lo ccm
des Gemisches:.....2o,7 mg A.S.N.
+ 12,o mg N H_3N.
(32,7 mg Ges.N. 29,35 mg N

Die Ammoniakbestimmung nach
Krüger-Reich-Schittenhelm ergab: 11,1 mg N.
Gesamt Formol-titrierbarer N-Ammoniak N = Aminosäuren N
29,35 = 11,1 = 18,24 A.S.N.
(2o,7 rechnerisch).

Dieser Fehler von ca.lo% würde,wenn er konstant bliebe,keine Rolle spielen (bei vergleichenden Bestimmungen). Wie bereits erwähnt ergaben dieselben Lösungen bei der Behandlung,wie selbige für den Urin vorgeschrieben ist,ganz andere Werte.Z.B.
25 ccm der Ammoniumsulfat-Glykokollstammlösung wurden 0,3 g Phosphate zugesetzt und auf 5o,o H_2O aufgefüllt,dazu 2 g Bariumchlorid umschütteln bis zur vollständigen Lösung,-Zusatz von gesättigtem Bariumhydroxyd bis zur deutlichen Rotfärbung; dann noch 5 ccm Bariumhydroxyd und auffüllen des Kolbens bis zur Marke loo,o;15 Minuten stehen lassen und filtrieren.
Aus je 4o ccm des Filtrats wurde der Gesamt formol titrierbare N und das Ammoniak einzeln bestimmt.
In 4o ccm nach Verrechnung der Verdünnung = 73,5 mg Gesamt Formol-titrierbarer N
In 4o ccm nach Verrechnung der Verdünnung = 14,2 Ammoniak N.
59,3 A.S.N.

25 ccm der Ammoniumsulfat Glykokollstammlösung ergaben(ohne Zusatz v.Phosphat u.Ausfällung)
71,9 mg Gesamt Formol-titrierbarer N
und 27,1 mg Ammoniak N.
44,8 A.S.N.

25 ccm der Ammoniakstammlösung enthalten

rechnerisch: 81,75 Gesamt N.
30,00 Ammoniak
51,75 A.S.N.

Bei der Soerensen'schen Formoltitration,wie selbige für den Urin vorgeschrieben ist,ergab sich also immer ein geringerer Ammoniakwert als bei der Ammoniakbestimmung der Reinsubstanz in wässriger Lösung.Nach Abzug des Ammoniak N vom Gesamt Formoltitrierbarten N ergab sich infolgedessen immer ein viel höherer Wert zu Gunsten des A.S.N.Je grösser der Ammoniakgehalt des Urins ist,umso grösser wird dieser Fehler.Bei obigem Versuch waren die Aminosäuren prozentual stärker vorhanden als das Ammoniak(18 mg A.S.N.-11,mg Ammoniak N).
Der A.S.N.-Wert war bei diesem Verhältnis(bei Phosphatzusatz und anschliessender Ausfällung)um 25% höher als bei der Untersuchung der Reinsubstanz.Beim normalen Urin ist der Ammoniakstickstoff gegenüber den A.S.N.stärker vertreten,der Fehler wird also grösser.Bei vergleichenden Bestimmungen ergab sich bei der Formoltitration durchwegs ein mehr wie doppelt - 3 mal so hoher Wert als wie bei der Bestimmung mit der Folin'schen Methode,Zu bedenken ist allerdings,dass bei der Formoltitration der Peptid gebundene N mitbestimmt wird.Für die Bestimmung der Aminosäuren im Kaninchenurin ist die Methode wegen der benötigten grossen Menge nicht günstig;ausserdem erfordert sie sehr viel Zeit.Nach einer Reihe von vergleichenden Versuchen habe ich mich entschlossen,nur die Folin'sche Methode in Anwendung zu bringen.

U n t e r s u c h u n g s m e t h o d e n :

Aminosäuren im Blut: Folin.
Aminosäuren im Urin: Folin.
Rest N im Blut: Kjeldahl.
Gesamt N im Urin: Kjeldahl.
Kreatinin im Urin: Folin.
Milchsäure im Blut: Herbert-Hirsch-Kaufmann.
Blutzucker: Hagedorn.

Zunächst wurden eine Reihe von Normalbestimmungen zu Kontrollzwecken durchgeführt.

Bestimmung von Gesamt-N Kreatinin und Aminosäuren an norm.Kanin.

Zur Orientierung tätigte ich eine Reihe von Versuchen am Futterkaninchen.In einer 10 tägigen Versuchsperiode wurde täglich zur selben Zeit nach Katheterismus der 24 Stundenurin untersucht.
Kaninchen 3 - 3,2 kg
täglich 5o g Hafer,
15o g Kohlrübe
Wasser nach Belieben.

Gesamt-N Ausscheidung in 24 Stunden.

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	1o. Tag.
755,	875,	68o,	721,	687,	817,	74o,	562,	725,	65o mg.

Durchschnitt: 721,2 mg N täglich
= 225,37 mg pro kg.Tier.

Kreatininausscheidung in 24 Stunden.

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	1o. Tag.
71,	77,	64,	68,	76,	64,	75,	8o,	72,	64 mg

Durchschnitt: 71,1 mg Kreatinin täglich
= 22,21 mg pro kg Tier.

Amino-N-Ausscheidung in 24 Stunden.

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	1o.Tag.
8,8	9,5	7,2	1o,1	,6,4	9,4	7,7	6,2	8,6	7,5 mg

Durchschnitt: 8,14 mg Amino-N täglich
- (1,12% v.Gesamt-N)
= 2,54 mg pro kg.Tier.

Dasselbe Kaninchen mit 150 g Kohlrübe ohne Hafer, Wasser nach Belieben.

Da ich beabsichtigte in einzelnen Versuchen die Bestimmungen im Urin nur alle 24 Stunden vorzunehmen,untersuchte ich die Ausscheidungen während 7 Tagen alle 24 Stunden und anschliessend während 14 Tagen alle 48 Stunden und berechnete den Durchschnittswert von 24 Stunden, sowohl in der 7 tägigen als auch 14 tägigen Versuchsperiode.

Gesamt-N in 7 Tagen bei 24 stündiger Bestimmung.

1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. Tag

711, 561, 71o, 465, 67o, 51o, 43o mg.

Durchschnitt: 551,mg Ges.-N.täglich

= 172,1 mg pro kg.Tier.

Gesamt-N-Ausscheidung in 14 Tagen bei 48 stünd.Bestimmung.

7. 9. 11. 13. 15. 17. 19. 21.Tag

112o, 1626, 94o, 117o, 93o, 132o, 118o mg

Durchschnitt: 5o7 mg N täglich

= 158,4 mg pro kg.Tier.

Kreatinin-Ausscheidung in 8 Tagen bei 24 stünd.Bestimmung.

1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. Tag

65, 58, 68, 72, 64, 68, 62 mg.

Durchschnitt: 65,2 mg Kreatinin täglich

= 2o,37 mg pro kg.Tier.

Kreatinin-Ausscheidung in 14 Tagen bei 48 stünd.Bestimmung.

7. 9. 11. 13. 15. 17. 19. 21. Tag

132, 124, 115, 12o, 152, 12o, 127 mg Kreatinin.

Durchschnitt: 63,57 mg täglich.

= 19,86 mg pro kg.Tier.

Amino-N-Ausscheidung in 8 Tagen bei 24 stünd.Bestimmung.

1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. Tag

3,o 2,6 3,o5 4,25 3,3 4,35 4,1 mg.

Durchschnitt: 3,25 mg täglich.

= 1,o1 mg pro kg.Tier.

Amino-N-Ausscheidung in 14 Tagen bei 48 stünd.Bestimmung.

7. 9. 11. 13. 15. 17. 19. 21.Tag

8,o5 6,55 7,o3 5,2 7,65 7,o1 8,o4 mg A.S.N.

Durchschnitt: 3,58 mg täglich

= 1,2 mg pro kg.Tier.

24 Stunden Durchschnittswert vom 7 - 14 tägigen Versuch.

	Gesamt-N.	Amino-N.	Kreatinin
Kaninchen 3 (5o g Hafer + 15o g Rüben) →			
	721,2	8,14	71,1 mg
		= 1,12% v.Ges.-N.	
pro kg.Tier:	226,o	2,54	22,21 mg
Kaninchen 3 (15o g Rüben)	529,o	3,58	64,4
		= o,58% v.Ges.-N.	
pro kg.Tier:	165,o	1,2	2o,12 mg

Im absoluten Hungerzustand tritt zunächst eine Erhöhung der N-Ausscheidung auf;die Zahlen gehen jedoch rasch zurück.Die Kreatinin-Ausscheidung bleibt ziemlich konstant,nimmt aber bei lange dauerndem Hungerzustand etwas ab.Der Amino-N nimmt zu, wenn von Rübenfütterung auf vollständigen Hungerzustand übergegangen wird,(von o,6 auf o,8% des Gesamt-N.).Vermutlich macht sich beim Kaninchen der endogene Anteil des Eiweissumsatzes etwas stärker in der Aminosäuren-Ausscheidung bemerkbar.(Brugsch & Hirsch konnten eine Abnahme der Aminosäuren-Ausscheidung im Hunger beobachten.Ztschr.f.exper.Path.& Ther.4,947,19o7).

P h o s p h o r v e r s u c h e :

Phosphorvergiftungen beim Menschen kommen heute kaum mehr vor,da die Verwendung des gelben Phosphors in Streichholzköpfchen seit 19o8 verboten ist,und die technische Verarbeitung nur unter besonderen Schutzmassnahmen stattfindet.Vor 19o8 ereigneten sich öfter Phosphorvergiftungen;besonders beliebt war der Genuss von Streichholzköpfchen durch weibliche Personen in selbstmörderischer Absicht,oder um eine bestehende Schwangerschaft zu unterbrechen.Die einzige Vergiftungsmöglichkeit bietet heute eigentlich nur noch die Phosphorlatwerge-ein Rattengift.Bei meinen Versuchen arbeitete ich mit Kaninchen von 3½ - 4½ kg Gewicht.Die richtige Dosierung macht insofern Schwierigkeiten,als gleich schwere Tiere bei der gleichen Dosis nicht immer gleich reagieren.Nach Möglichkeit sollte eine chronische,in die Länge gezogene Vergiftung angestrebt werden,da nur durch eine solche die Leberzellen wirklich so angegriffen

werden,dass sie zum Absterben kommen.Bei der akuten P-Vergiftung,welche ich in einigen Fällen vornahm,zeigte sich wohl immer eine stark verfettete Leber;die Leberzellen waren jedoch als solche in ihrer Anordnung noch gut zu erkennen; es handelte sich hier um akute Vergiftungen,von 4-6 tägiger Dauer mit einer Dosis von 8-lo mg.Ich ging deshalb zu kleineren Dosen über und gab den Tieren Gelegenheit,sich wieder zu erholen. Wichtig ist,nach einer wirksamen ersten Dosis,-die zweite Dosis in einem grösseren Abstand zu geben.Die Leber zeigte bei Tieren,welche 14 Tage bis 3 Wochen der P-Intoxikation unterworfen wurden,schwerste Veränderungen des Parenchyms.Die Struktur der Acini war fast ganz verändert,vom Zellbalkenreihen nichts mehr zu unterscheiden;überall ein regelloses Gewirr von degenerierten polygonalen Zellen mit teilweise schlecht färbbaren oder überhaupt nicht sichtbarem Kern;das Protoplasma war getrübt und zeigte feinkörnige Fettinfiltration,doch fehlte dieselbe in einer Reihe von anscheinend vollständig zugrunde gegangenen Zellen.Zunächst führte ich einige orientierende Versuche am Meerschweinchen aus.Meerschweinchen mit einer einmaligen Dosis von 5 mg Phosphor gehen meistens nach 5 Tagen zugrunde.Das Blut zeigte,von geringen Schwankungen abgesehen,normale Werte von Aminosäuren.

	1.	2.	3.	4.	5.Tag.	
Meerschweinch.	1 = 9,4		9,2	9,6	9,5	
"	2 =lo,2		9,8	lo,3	lo,o	
"	3 = 8,9		8,5	8,9	9,2	
"	4 = 9,5		9,o	9,2	9,6	
"	5 =lo,2		9,8	9,8	9,2	
"	6 = 9,7		9,4	9,6	9,8	mg% Amino-N.

Mehrere Tiere gingen bereits nach der zweiten oder dritten Herzpunktion zugrunde.Jch glaube,dass bei langdauernden subchronischen Phosphorvergiftungen der Darm seine Resorptionsfähigkeit für Phosphor etwas verliert,ähnlich wie gegen Arsenik der Arsenikesser,der es bekanntlich bis zu einer Tagesmenge von ½ g bringen kann,ohne dass Vergiftung eintritt.Die intravenöse Jnjektion hält ihre Giftigkeit vollständig bei.So zeigten Kaninchen mit langdauernder subchronischer Vergiftung

ein schwereres Krankheitsbild,wenn von der oralen Applikation auf die subkutane Jnjektion übergegangen wurde,während im Anfang der Vergiftung die Toxicität des Phosphors durch Resorption vom Darm aus eine grössere zu sein scheint.Jch habe den Phosphor deshalb bei längeren Versuchen kombiniert gegeben.

Kaninchen 4 3,5 kg; täglich 5o g Hafer + 15o g Kohlrübe + 5o ccm phys.Na Cl Lösg.

Dat.	Urin ccm	Ges.N. mgr	Aminosäuren N. mg im Urin	Kreatinin mg	Rest N. im Blut mg%	Amino-N. im Blut mg%.
3/4.IV. 1929	132	1854	12,4 (0,66%)	2o2	39	1o,o
5/6.IV.	184	197o	11,6 (0,58%)	18o	39	9,9
					4 mg P.p.os.	
7/8.IV.	21o	179o	12,4 (0,69%)	186	41	1o,2
9/1o.IV.	2o3	14oo	11,6 (0,82%)	214	41	11,4
11/12.IV.	198	22oo	16,8 (0,76%)	21o	53	11,8
					1o mg P subcut.	
13/14.IV.	175	32oo	2o,36(0,64%)	23o	56	11,5
15/16.IV.	188	311o	34,43(1,1%)	228	68	14,5

Exitus. Herzpunktion in der Agonie: 17,2 mg% Amino N.

Rest N im Blut stieg um 74,3%;

Aminosäuren N im Blut stieg um 45%;
in der Agonie um 75%;

Gesamt N Ausscheidung stieg um 67%;

Aminosäuren-Ausscheid.letzt.2 Tage:1,1% v.Ges.N.

Kreatinin stieg um ca.2o% an;

Kaninchen 5 3,25 kg.(Hungerversuch)täglich 5o ccm phys.Na Cl.Lös.

Dat.	Urin ccm	Ges.N. mg	Amino N. im Urin	Kreatinin mg	Rest N. mg%	Amino N.(Blut) mg%
1927						
7.8.	71	7oo	5,8 (0,83%)	85	4o	9,8
8.8.	86	64o	5,5 (o,86%)	79		
9.8.	75	72o	3,8 (o,53%)	99	39	1o,1 3 mg P.p.os.
1o.8.	68	48o	4,9 (o,63%)			
11.8.	87	84o	4,1 (o,48%)	88	49	19,o5
12.8.	91	51o	3,8 (o,74%)	79		
13.8.	68	49o	3,2 (1,o7%)	82	54	11,2

Kaninchen 5 3,25 kg.(Hungerversuch)tägl.5o ccm phys.Na.Cl.Lös.

Dat.	Urin ccm	Ges.N. mg	Amino N. im Urin	Kreatinin mg	Rest N. mg%	Amino N.(Blut) mg%	
1927.							
14.8.	67	47o	4,7 (1,o%)	9o			3 mg P.p.os.
15.8.	78	565	4,2 (0,74%)	88	56	13,4	
16.8.	65	71o	4,9 (o,69%)	7o			
17.8.	69	48o	6,8 (1,4%)	68	64	12,9	
18.8.	75	74o	11,4 (1,54%)	65			5 mg P.subcut.
19.8.	88	9oo	12,2 (1,35%)	72	78	12,9	
2o.8.	85	14oo	14,2 (1,o1%)	69			
21.8.	62	115o	13,7 (1,19%)	76	8o	17,5	

22.8. Exitus. Amino S.N. 5 Min. vor dem Exitus 24,5 mg%.

Rest N: 1oo% gestiegen Ges.N.Ausscheidung: 1o1% gestiegen (die 2 letzt.Vers.Tg.)

Amino N: 77% " Amino N:Ausscheidung: 1,1% vom Ges.N.

5 Min.vor d.Exitus 15o% " Kreatinin: 1o,5% zurückgeg.

Kaninchen 17 3,12 kg.täglich 1oo g Kohlrübe = o,2 N
Wasser nach Belieben.

Bei diesem Kaninchen legte ich besonders Wert darauf,die Vergiftung nach Erholungspausen wieder weiterzuführen.Jch bestimmte hier nur den Amino S.N.im Blut,um durch die wiederholten grösseren Blutentnahmen Aenderungen im Amino N,wie solche gelegentlich nach Aderlässen beobachtet wurden,auszuschalten und das Tier selbst allgemein zu schonen.

Dat.	3.	6.	9.	12.	15.	18.	21.	24.	27.	3o.4.28.
A. S.N.	12,9	13,2	11,9	12,52	12,5	12,4	11,7	12,2	11,9	14,4 mg%

Phosphor

3 mg P subcut. 3 mg subcut. krank 2mg p.os. 2mg subcut. 6mg subcut.

Am 3o.4.29 Herzpunktion;in der Agonie;Amino N 19,2 mg%.
Leider musste ich diesen Versuch aus dienstlichen Gründen beschleunigen,bzw.durch eine erhöhte Phosphorgabe beendigen.
Bei diesem Versuch war der Aminosäuren N im Blut nur um 11,6% gest.
In der Agonie belief sich die Erhöhung auf 48%.

Einen Versuch möchte ich noch erwähnen, der durch seine hohen Rest N Werte und seinen enorm hohen Blutzucker abnorm verlief.

Kaninchen 9: 3,1 kg. (Hungerversuch); Wasser nach Belieben.

Datum:	Rest N mg%	Amino N mg%	Blutzucker mg%	
1o.4.	34	88,8	149	
13.4.	4o	8,6	135	
17.4.	72	9,2	17o	
2o.4.	76	7,9	168	
24.4.	16o	1o,6	4o4	
12 Uhr				
24.4.	2oo	16,7	416	
22 Uhr				Krämpfe, Herzpunktion.

Urin zeigte Spuren von Zucker.

Bei diesem Versuch stieg der Amino N von 8,8 auf 16,7 mg%. Der Rest N stieg von 34 auf 2oo mg%. Das Blut zeigte am letzten Versuchstag einen Blutzuckerspiegel von 416 mg%. Dies ist umso seltsamer als bei der P Vergiftung der Blutzucker bis auf 0 zu sinken pflegt. Auch in einem weiteren Versuch, der jedoch nicht regelmässig durchgeführt wurde, bot das Blut in der Agonie einen Wert von über 2oo mg% Gluccose. Vermutlich wirkte sich die Phosphor-Intoxikation in diesem Versuch weitgehend auf andere Organe aus. Blutungen in das Pankreas, degenerative Prozesse in der Niere könnten diese Befunde erklären. Leider war es mir in diesem Falle nicht möglich, die Leber und insbesondere das Pankreas einer eingehenden mikroskopischen Untersuchung zu unterziehen.

Versuche mit Phlorizin.

Die glykosurische Wirkung des Phl. wurde 1886 von Mehring entdeckt. Minkowski fand, dass durch den unaufhörlichen Verlust des Zuckers durch die Nieren, eine Senkung des Blutzuckerspiegels eintritt. Nach den Versuchen von Minkowski, Zuntz, Selig, Erlandsen ist es nicht mehr zweifelhaft, dass Phl. in erster Linie auf die Nieren wirkt, d. h. dieselbe verliert die Fähigkeit der Retention gegenüber Gluccose; es handelt sich also um eine

pathologische Sekretion.Die Zuckerberaubung des Blutes wird bei genügend starker Phl.-Vergiftung sofort mit einer Entleerung der Glykogenlager beantwortet,und wenn alles Glykogen abgegeben ist,wird in der Leber neuer Zucker gebildet,um den Blutzuckerspiegel aufrecht zu erhalten.Die Wirkung auf die Niere ist erwiesen.Vermutlich verliert die Leber ihre Fähigkeit - Traubenzucker zu speichern.Die Folge davom ist,dass das Blut mit Traubenzucker überschwemmt wird,bzw.neu entstehende Gluccose nicht mehr im Sinne der Glykogenbildung verwertet werden kann.Für den geringeren Schwellenwert der Niere für Traubenzucker spricht wohl der Umstand,dass beim gesunden Kaninchen erhöhte Blutzuckerwerte von 150-200 mg%, wie solche beim Füttern von Traubenzucker entstehen,keine Gluccoseausscheidung bedingen.Andererseits beobachtete ich, dass bei Phl.Gaben der Blutzucker beim Kaninchen nicht sinkt, sondern zunächst eine Erhöhung erfährt,also mehr Zucker im Blut frei wird,als ausgeschieden wird.Dieses Verhalten spricht dafür,dass die Leber den Zucker nicht mehr speichern kann und erst bei lange dauernder Phl.-Vergiftung,wenn der Glykogengehalt der Leber abgebaut ist,kommt es auch zu einer Senkung des Blutzuckerspiegels und im Endzustand zu jenen Erscheinungen, welche F.Fischler als Auswirkungen der glykopriven Intoxikation identifiziert hat. Das Kaninchen verhält sich etwas anders als der Fleischfresser und ist in der Lage,seinen Blutzuckerspiegel unter Phl.-Wirkung längere Zeit im Hunger aufrecht zu erhalten,bzw.erst final mit einer Verarmung des Blutes zu antworten.Eine Senkung des Blutzuckers auf Null habe ich auf diese Weise nicht erlebt.Es dürfte sich bei den Krampfzuständen kurz vor dem Exitus wohl um ein hypoglykaemisches Coma(glykoprive Intoxikation)gehandelt haben.Für längere Versuche ist das Kaninchen weniger geeignet,da gelegentlich durch die Vergiftung der Exitus eintritt.

Das Phlorizin kam in öliger Suspension (1gr Phloriz.-7 ccm Olivenöl)durch subcutane Injektion zur Anwendung.Das Präparat stammte von der Firma Merck.Es seien einige Versuche herausgegriffen.

Aminosäuren im Blut unter Phlorizin-Wirkung. 48 Stundenversuch.

Kaninchen 12: 3 kg. 3 Tage gehungert.

Datum:	6.X.1927.			7.X.			8.X.
8 Uhr	12	17	2o	1 Uhr	8	2o	8 Uhr
Blutzucker mg%.							
131	127	125	96	167	151	136	1o6
Amino N mg							
12,2	14,2	13,5	16,o	13,o	14,2	12,8	12,3

Der Aminosäurengehalt war dauernd Schwankungen unterworfen, ohne dass sich jedoch ein gesetzmässiges Verhalten gegenüber dem Blutzucker feststellen liess.

Kaninchen 13: 3,5 kg.(Hungerversuch) Wasser nach Belieben. + 1oo ccm phys.Na Cl Lösung.

Dat.	Blutzucker mg%	Amino N im Blut mg%	Amino N im Urin mg	
1o.X.27.	98	9,8		tägl.0,2Phl.
11.X.	134	1o,2	13,o	pro kg.
12.X.	122	1o,8		
13.X.	133	11,2	15,2	
14.X.	148	9,9		
15.X.	117	1o,2	14,3	
16.X.	129	1o,4		
17.X.	132	1o,4	12,8	
18.X.	118	1o,6		
19.X.	112	9,8	14,6	
2o.X.	114	1o,4		
21.X.	88	7,7	9,7	
22.X.	66	9,2		
23.X.	55	7,2	1o,1	Krämpfe.Exit.

Der A.S.N.im Blut war am Schluss des Versuches um 26,5% gesunken.Die Aminosäuren-Ausscheidung war im Vergleich zum Normalkan. erniedert.

Kaninchen 22: 3,5 kg (Hungerversuch)1oo ccm phys.Na ClLös.tgl. Wasser nach Belieben.

Datum 1928	Gewicht kg.	Harn ccm	Amino-N. mg	Rest N. mg%	Amino-N. mg%	Milchs. mg%	Blutzuck. mg%	
27.I.	3,5	96	7,4	32	8,1	42	127	
28.I.	3,3	97	8,6	38,3	7,32	41,6	12o	
29.I.	3,2	1o1	6,7	37,4	8,14	56,2	123	
3o.I.	3,o	94	6,6	39,2	9,1	33,1	117	
31.I.	2,75	98	5,9	39,4	7,2	51,3	111	0,2 Phl.t.
1.II.	2,7	84	7,2	46,1	8,8	52,4	131	
2.II.	2,62	9o	6,4	44,1	8,1	52,8	134	

Datum 1928	Gewicht kg.	Harn ccm	Amino-N. mg	Rest-N. mg%	Amino-N. mg%	Milchs. mg%	Blutzucker mg%
3.II.	2,6	91	7,3	48,1	7,64	51,9	138
4.II.	2,53	88	6,7	46,8	7,59	5o,2	142
5.II.	2,32	9o	6,6	52,3	9,11	32,4	138
6.II.	2,42	86	6,9	61,4	9,2	38,6	141
7.II.	starke Blasenentzündung, Versuch abgebrochen - 11.II, tot.						

Auch bei diesem unvollendeten Versuch war während der 7 Versuchstage der Blutzucker von 111 auf 142 mg% gestiegen. Die Milchsäure stieg mit dem Blutzucker an (ca 2o%), ging dann um ca. 4o% zurück, während der Blutzucker während dieser Phase seinen erhöhten Wert beibehielt. Der Aminosäurenspiegel zeigte mässige Schwankungen; er hielt sich während diesem Versuch innerhalb normaler Grenzen. Auch die Aminosäuren-Ausscheidung zeigte keine erhöhten Werte.

Bei einem Versuchstier wurde der Amino-N im Blute während 18, bei einem weiteren während 21 Tagen untersucht. o,1 g Phlorizin pro kg wurde nur jeden zweiten Tag verabreicht; Blutentnahme jeden zweiten Tag. Der Aminosäurengehalt des Blutes war während der ersten Hälfte des Versuchs wechselnd, meistens etwas erhöht anzusprechen. Mit zunehmender Inanition stellte sich in beiden Fällen eine Senkung des A.S.N. ein. Die beiden Tiere wurden nachdem in der Agonie beim Phlor-Kaninchen nie eine Erhöhung des A.S.N. beobachtet wurde, wieder aufgefüttert. Die Presslust war sehr rege, die Gewichtszunahme ging rasch von statten.

Versuche mit I c t e r o g e n Ehrlich.

Das Präparat wurde bisher zu Stoffwechselversuchen wenig herangezogen. Es wird derzeit nicht mehr hergestellt. Icterogen ist eine Pyrrolverbindung der Arsenilsäure und besitzt eine besondere Affinität zu den Leberzellen. Nach der Vorschrift in Abderhaldens Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden brachte ich das Präparat zuerst in Lösungen von 1:5ooo zur Anwendung; 1 ccm pro 2o g Tier = o,o1 Ict. pro kg. = 5o ccm Lösung pro kg. Da eine langsame Vergiftung erzeugt werden sollte, wurde den Tieren zunächst die Hälfte dieser Menge, also 25 ccm (o,oo5) verabreicht. Bei dreimaliger subcutaner Anwendung in 5tägigem Abstand stellten sich keinerlei besonderen Krankheitserscheinungen ein. Der Aminosäuren N im Blut und im Urin blieb soviel wie unverändert.

Kaninchen 15: 3,2 kg 15o gr.Rüben.

Datum: Dez.1927.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	12.	16.
Amino-N mg% im Blut.	9,8	1o,4	9,9	9,7	9,3	9,7	11,2	1o,8	9,9	1o,3

Auch bei der Anwendung von o,ol g Icterogen wurden die Tiere bei 5 tägigen Zwischenräumen,falls die wässrige Lösung subcutan injiziert wurde,nicht schwer krank.Erst bei intravenöser Injektion von o,ol g pro kg.wurden die Tiere,nachdem sie bereits 3 Tage vor Beginn des Versuchs gehungert hatten,4 Tage nach der ersten Injektion ikterisch,erholten sich jedoch wieder, wenn weiterhin keine Schädigung vorgenommen wurde.Auch hier blieb der Aminosäurenspiegel,von geringen Schwankungen abgesehen,unverändert.Ich zog nun die intravenöse Einspritzung in die Ohrvene jeder anderen Verabreichung vor,gab nach dreitägigem Hungern O,ol g Icterogen und wiederholte die Einspritzung nach dreimal 24 Stunden.Die Tiere wurden nach der zweiten Einspritzung stark ikterisch und gingen 7-8 Tage nach der ersten Injektion zugrunde.In 2 weiteren Versuchen wurde Icterogen kombiniert gegeben und der Versuch in die Länge gezogen.

Dat.	Gew. kg	Harn ccm	Ges.N. mg	Amino-N. mg	Kreatinin mg	Im U r i n:
17.I.	3,5	82	486	4,9	75	
18.I.	3,3	75	675	5,9	72	
19.I.	3,15	68	564	6,4	67	
2o.I.	2,9	72	354	5,6	69	
21.I.	2.75	57	63o	6.8	58	
22.I.	2,7	66	592	8,9 (1,5%)	72	
23.I.	2,42	75	645	11,3 (1,75%)	69	
24.I.	2,1	69	58o	1o,2 (1,76%)	51	
25.I.	2,19	62	628	11,4 (1,81%)	54	

	Amino-N. mg%	Rest-N. mg%	Milch S. mg%	Blutzucker mg%	Im B l u t:
17.I.	8,2	41	3o,4	111	
18.I.	7,8	39,6			
19.I.	8,1	42,4	33,1	97	
2o.I.	7,68	46,1			
21.I.	7,94	52,3	28,1	98	
22.I.	8,32	56,7			
23.I.	8,24	61,4	22,6	93	
24.I.	7,96	63,8			
25.I.	8,o3	62,7	19,3	92	

Kaninchen 16:Versuch v.17.I.-26.I.28 (Hungerversuch) tgl.5o ccm phys. Na Cl Lös.subc. Icterogen O,Ol g

Rest N: 53% gestiegen;
Amino N: unverändert;
Milchsäure: 36,5% zurückgegangen.
Blutzucker: 17,2% zurückgegangen.
Amino N Ausscheidg.d.
letzten 4 Tage :1,51% vom Gesamt N.

Datum	Gew. kg.	Harn ccm	Ges.N. mg	Amino N. mg	Kreatinin mg	Im Urin.
1/II.	3,2	8o	41o	6,9	62	
2/II.	3,o	75	54o	7,2	66	
3/II.	2,9	7o	48o	4,8	58	
4/II.	2,7	65	32o	6,9	52	
5/II.	2,6	55	514	7,1	64	
6/II.	2,45	63	378	7,3	69	
7/II.	2,35	65	465	6,9	62	
8/II.	2,1	58	41o	8,2 (2%)	52	
9/II.	1,85	6o	482	8,1 (1.78)	59	
1o/II.	1,8	56	53o	12,5 (2,36)	61	
11/II.	1,7	6o	528	11,4 (2,14)	58	
				% v.Ges.N.		

Datum	Amino N. mg%	Rest N. mg%	Milch S. mg%	Blutzucker mg%	Im Blut.
1/II.	8,5	35	34	12o	
2/II.	8,8	33			
3/II.	8,9	38,2		Kanin.18 Versuch v. 1/II.-12/II.28	
4/II.	9,2	41,2	33,2	1o8 3 Tage gehungert, tägl.5o ccm physiol.	
5/II.	8,4	44,3		Kochsalzlösung subcutan	
6/II.	8,o	5o,8		Icterogen 0,o1 g p.kg.	
7/II.	9,5	52,4	27,1	1o6	
8/II.	1o.9	56,3		am 3/II.u.7/II.Intraven.	
9/II.	11,7	54,9			
1o/II.	11,8	56,2	2o,5	98	
11/II.	12,5	57,1			

R.N. = 53% gestiegen
A.N: = 47% gestiegen
Milch S.: 39% zurückgegangen
Blutzucker: 18,3% zurückgegangen.

Amino N.Ausscheidg.d.
letzt.4 Tage 12/2.
28 Exitus.= 2,o7% v.G.N.

	Im Urin.				Im Blut.			
Dat. Gew. kg.	Harn ccm	Ges. N.mg.	Amino N.mg.	Kreatinin mg	Amino N.mg. %	Rest N.mg. %	Milch S.mg. %	Blutzuck. mg. %
17/2.3,8	88	39o	4,5	65	1o,2	38	38,1	129
18/2.3,72	72	42o	6,2	82			o,oo5 Icter pro kg. Subcutan.	
19/2.3,6	66	66o	5,8	74				
2o/2.3,45	73	54o	6,4	79	9,8	41	32,3	112
21/2.3,32	6o	54o	6,8	62				
22/2.3,21	68	48o	5,3	71				
23/2.3,14	74	42o	6,1	81	1o,1	45	29,7	1o8
24/2.3,o4	69	41o	4,9	72			o,oo5 Icter pro kg. subcutan.	
25/2.2,91	62	32o	1o,4	67				
26/2.2,78	76	335	9,7	62	9,1	56	25,3	97
27/2.2,61	64	374	19,4	68			o,oo5 Icter pro kg. intravenös.	
28/2.2,55	69	31o	18,2	58				
29/2.2,48	59	354	14,8 (5,87)	72	11,3	54	22,2	96
1/3.2,31	74	42o	23,4 (4,18)	61			o,o1 Icter pro kg. intravenös.	
2/3.2,29	67	46o	25,2 (5,57)	45	12,4	56	21,8	98
3/3.Exitus			(5,47) % Amino N v.Ges.N.					

Kaninchen 19.Versuch v.17/2.- 3/3.28.

Amino N der letzten 4 Tage = 5,28% v.Ges.N.

3 Tage gehungert tägl.5o ccm physiolog.Kochsalzlösung subcutan.

Icterogen o,oo5 am 19.-23.-26.o,o1 p.kg. am 29/2.

Rest N.: 47,3% gestiegen.

Amino N.: 21,5% gestiegen.

Milchsäure: 42,7% zurückgegangen.

Blutzucker: 24,1% zurückgegangen.

		Im Urin.			Im Blut.			
Dat.	Gew. kg	Harn ccm	Ges. N.mg.	Amino N.mg.	Kreatinin mg.	Amino N.mg. %	Rest N.mg. %	Milch S,mg. %	Blutzuck. mg. %
1o/3.	4,1	9o	6oo	45	74	11,9	41	41,2	147
11/3.	3,95	78	48o	6,7	82		o,oo5 Icter pro kg. subcutan.		
12/3.	3,86	62	75o	5,8	72				
13/3.	3,7o	71	54o	7,6	76	12,1	4o	38,3	13o
14/3.	3,61	68	51o	4,7	84				
15/3.	3,55	74	62o	5,2	78				
16/3.	3,47	81	34o	7,8	68	11,2	44	3o,1	119
17/3.	3,32	65	41o	8,4	81		o,oo5 Icter pro kg. subcutan.		
18/3.	3,25	74	36o	6,1	75				
19/3.	3,14	57	49o	9,4	78	12,3	52	27,5	112
2o/3.	3,o5	64	52o	8,7	69		o,oo5 Icter pro kg. intravenös.		
21/3.	2,92	71	37o	14,5 (3,9)	74				
22/3.	2,79	68	46o	17 (3,7)	71	12,8	56	24,3	99
							o,o1 Icter pro kg. intravenös.		
23/3.	2,75	69	61o	21,3 (3,49)	65	12,9			
24/3.	2,66	65	48o	18,6 (3,87)	74	13,4			
25/3.	Exitus					12,7			

(% Amino N v.Ges.N.)

Amino N der letzten 4 Tage = 3,7% v.Ges.N.

Kaninchen 2o.Versuch v.1o.3.-25.3.

3 Tage gehungert tägl.5o ccm physiolog.Kochsalzlösung subcutan

Icterogen o,oo5 am 12.-16.p.kg.subcut.

Am 19/3. o,oo5 pro kg.intravenös

Am 22/3. o,o1 pro kg.intravenös.

Rest N: 36,7% gestiegen.

Amino N: 6,7% gestiegen.

Milchsäure: 41,o% zurückgegangen.

Blutzucker: 32,6% zurückgegangen.

Vitale Färbung der Kupffer'schen Sternzellen.

Ueber die Funktion der K'Sternzellen ist nicht viel bekannt. Ihre Aufnahmefähigkeit für Haemoglobin und eine Reihe anderer Stoffe ist erwiesen; ihre Mitwirkung bei der Urobilinbildung ist umstritten. Kotake und seine Mitarbeiter haben durch tägliche Injektionen von "Carmin Grübler"-innerhalb 8 Tagen insgesamt 21-78 ccm einer 4%igen Lösung von Carmin Grübler in 2%iger Sodalösung eine Vitalfärbung der K'Sternzellen beim Kaninchen durchgeführt. Sie haben dabei beobachtet, dass zugeführtes Phenylalanin und Tyrosin in viel geringerem Maße abgebaut wurde, als bei Kaninchen, welche nicht mit Carmin vorbehandelt wurden. (Nachweis der entsprechenden Ketosäuren im Urin). Die Autoren nahmen dabei an, dass die physiologische oxydative Desaminierung eine starke Einbusse erlitten habe und brachten selbige in ursächlichen Zusammenhang mit einer funktionellen Ausschaltung der Kupffer'schen Endothelzellen. Diese Annahme wäre berechtigt, wenn nur die K'Sternzellen durch eine derartige Vorbehandlung getroffen würden. Es zeigte sich jedoch, dass wohl sämtliche Gewebe, - Haut, Knochen, Zähne, Muskeln, Fett, Schleimhäute, seröse Häute diesen Farbstoff aufnehmen und erst nach längerer Zeit wieder abgeben. Weshalb sollten gerade nur die K'Sternzellen geschädigt werden? Um aber den Einfluss dieser vitalen Carminfärbung auf den normalen Gehalt des Blutes an Aminosäuren, bzw. auf die Ausscheidung von Aminosäuren zu beobachten, habe ich mehrere Kaninchen dieser Behandlung unterworfen. Es muss dabei abgewartet werden, bis das im Ueberschuss vorhandene im Blut zirkulierende Carmin ausgeschieden wird, da ein starker Gehalt des Urins an Carmin bei der Folin'schen Methode einen erhöhten Wert vortäuschen könnte. Eine Behandlung des Urins mit Tierkohle ist wegen der Absorption von Aminosäuren nicht zulässig. Es hat sich jedoch gezeigt, dass sowohl der Gehalt an Aminosäuren im Blut, als auch die Ausscheidung im Urin sich innerhalb normaler physiologischer Grenzen bewegte, ohne dass sich ein abnormes Verhalten gegenüber nicht mit Carmin behandelter Tiere zeigte.

Zusammenfassung:

Aus den Vergiftungsversuchen mit Phosphor, Icterogen Ehrlich, Phlorizin und der Vitalfärbung der Kupffer'schen Endothelzellen mit Carmin Grübler ergibt sich, dass nur mit zwei Substanzen, Phosphor - und Icterogen, Stoffwechselveränderungen im Sinne einer mässigen Hyperaminacidose auftreten.

Bei der chronischen Phosphorvergiftung erfährt der Amino-N Spiegel des Blutes in den Endtagen in der Regel eine Erhöhung von 5o bis 1oo%, die sich kurz vor dem Exitus auf 15o-18o% steigert. (Bekanntlich tritt beim Menschen vor dem Exitus ganz allgemein eine geringe Erhöhung des Amino N im Blut auf). Der Rest N stieg um 8o-1oo% an; in einem Fall zeigte sich ein Anstieg von 34 mg% auf 2oo mg%, also eine Erhöhung um 6oo%.

Die Amino N Ausscheidung stieg an, ging aber nur prozentual mit der Gesamt N Ausscheidung in die Höhe (5o-1oo%).

In einem Versuch bot der Blutzucker einen Wert von 416 mg% im Endzustand; in einem anderen Versuch, der jedoch nicht regelmässig durchgeführt wurde, zeigte sich ebenfalls ein Wert von 2oo mg Gluccose. Dieses Verhalten des Blutzuckers bei der chronischen Phosphorvergiftung, steht im Gegensatz zu den Befunden verschiedener Autoren, die bei der acuten P-Vergiftung wiederholt eine Senkung des Blutzuckers bis auf Null festgestellt haben.

Bei der Vergiftung mit Icterogen zeigte sich nur eine mässige Erhöhung des Amino N im Blut (2o-25%).

Bei der protrahierten Icterogenvergiftung steigt der Aminosäurengehalt des Urins konstant an; in zwei Fällen betrug er 3,7 bezw. 5,28% des Gesamt N.

Bei der Phlorizin-Vergiftung war während der 48 stündigen Vergiftung der Aminosäurengehalt des Blutes wechselnd; es bestanden Schwankungen zwischen 12 und 16 mg%. Bei der chronischen Phlorizin-Vergiftung nahm der Aminosäurengehalt des Blutes ab, ca. 2o-25%. Phlorizin erzeugte keine erhöhte Aminacidurie: die Ausscheidung von Aminosäuren war trotz der starken endogenen Umsetzungen durch Phlorizinwirkung nicht

erhöht.Vermutlich dürften Aminosäuren,welche beim Abbau von Körpereiweiss beim Phlorizin-Kaninchen auftreten,sehr rasch weiter abgebaut werden,da sie selbst bei verstärkter Diurese nicht erhöht im Harn auftreten.

Die Vitalfärbung der Kupffer'schen Sternzellen mit Carmin Grübler liess den Aminosäurenspiegel unbeeinflusst.Auch im Urin zeigten sich normale Werte.

Bemerkenswert ist,dass bei so schweren Vergiftungen nur geringe Veränderungen im Stoffwechsel auftreten.
Deutung: Es besteht die Möglichkeit,dass nicht nur die Leber, sondern auch andere Organe bei der Synthese und Desaminierung von Aminosäuren wesentlich mitbeteiligt sind.

Eine Hyperaminacidose kommt durch Einwandern von Aminosäuren in die Gewebe nicht zur Geltung(auf Organuntersuchungen musste in diesen Versuchen verzichtet werden).

Eine Erhöhung des Aminosäurenspiegels tritt erst dann ein,wenn alle Leberzellen zu Grunde gegangen sind.Dies ist aber gleichbedeutend mit dem unmittelbaren Exitus.In diesem kurzen Zeitraum,-zwischen lokalem Leberzellentod und allgemeinem Exitus,kann eine Hyperaminacidose nicht typisch in Erscheinung treten.

Es sei mir an dieser Stelle gestattet,Herrn Professor O.Neubauer für Ueberlassung des Themas, Durchsicht der Arbeit und Uebernahme des Referats meinen ergebensten Dank auszusprechen.